Über die Isolierung von Enteroviren des Schweines in Schweinenierenkulturen

Teferra Wonde

1962

Aus dem Tierhygienischen Institut der Universität München
Vorstand: Prof. Dr. A. Meyn

ÜBER DIE ISOLIERUNG VON ENTEROVIREN DES SCHWEINES IN SCHWEINENIERENKULTUREN

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der veterinärmedizinischen Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität zu München

von

Teferra Wonde

aus

Debretabor / Aethiopien

München 1962

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät
der Universität München

Referent: Professor Dr. M. Rolle

Dekan: Professor Dr. K. Ullrich

Tag der Promotion: 26. September 1962

"U N I" - Druck, München 13, Amalienstr. 85

INHALTSVERZEICHNIS

		Seite
I.	EINLEITUNG	1
II.	LITERATUR	1
	1. Virusisolierung	1
	a) Virusisolierung aus dem Kot erkrankter Schweine	1
	b) Virusisolierung aus dem Kot gesunder Schweine	2
	2. Immunologische Eigenschaften der Enteroviren	2
	3. Empfänglichkeit und Züchtungsmethoden	3
	4. Infektiositätsbestimmungen	4
	5. Physikalische Eigenschaften	4
	a) Größe	4
	b) Temperatur	4
	c) Chloroformresistenz	5
III.	EIGENE UNTERSUCHUNGEN	5
	A) Material und Methoden	5
	1. Untersuchungsmaterial	5
	2. Bakteriologische Prüfung	6
	3. Herstellung der Gewebekulturen	6
	4. Beimpfung der Gewebekulturen	7
	B) Ergebnisse der Untersuchungen	7
	1. Isolierung der Enteroviren	7
	2. Beschreibung des zytopathogenen Effektes in Schweinenierenkulturen	8
IV.	BESPRECHUNG DER ERGEBNISSE	13
V.	ZUSAMMENFASSUNG	15
VI.	SCHRIFTTUM	17
	Lebenslauf	

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41546824_0033

I. EINLEITUNG

Mit der Verbesserung und Vereinfachung der Gewebekulturtechnik gelang es in den letzten Jahren, aus dem Kot von Schweinen zahlreiche Viren zu isolieren. Neben bereits bekannten Erregern, wie dem Virus der ansteckenden Schweinelähmung, fand man mit Hilfe der Gewebekultur andere zytopathogene Agentien, deren Beziehung zu Krankheitsformen unklar war. Auf Grund ihrer Affinität zum Darmtrakt ordnete man sie zunächst in die Gruppe der Enteroviren ein.

In Analogie zu den ECHO- (Enteric cytopathogenic human orphan)-Viren des Menschen (Committee on the ECHO-Viruses of the National Foundation for Infantile Paralysis, 1955) über deren klinische Bedeutung ebenfalls noch keine Klarheit herrscht, spricht man beim Schwein von den ECSO-(Enteric cytopathogenic swine orphan)- oder auch den ECPO- (Enteric cytopathogenic porcine orphan)-Viren.

Die ECSO-Viren gehören zu den kleinsten bisher bekannten Virusarten (Größe 35 mμ). Sie verhalten sich chloroformresistent.

Heute beschäftigen sich zahlreiche Virologen mit der Aufgabe, die Enteroviren näher zu untersuchen und ihr klinisches und epidemiologisches Geschehen aufzuklären.

Mir wurde die Aufgabe gestellt, den Mastdarminhalt klinisch gesunder Schweine des Schlachthofes München auf chloroformresistente ECSO-Viren zu untersuchen.

II. LITERATUR

1. Virusisolierung

a) Virusisolierung aus dem Kot erkrankter Schweine

Moscovici, Ginevri und Mazzaracchio berichteten erstmals über die Isolierung von Enteroviren aus dem Kot von Schweinen, die an Diarrhoe erkrankt waren. Übertragungsversuche auf neugeborene Ferkel blieben jedoch ohne Erfolg. Ähnliche Ergebnisse liegen von Lamont und Betts vor.

Dagegen konnten Sibalin und Lannek mit einem aus Schweinekot isolierten Virusstamm nach experimenteller Infektion kolostrumfrei aufgezogener Ferkel das Bild einer Polioencephalomyelitis und Pneumonie hervorrufen. Betts, Jennings und Kelly isolierten aus den Tonsillen von zwei Monate alten Ferkeln und aus dem Kot eines dieser Tiere zwei Virusstämme. Eine experimentelle Infektion bei kolostrumfrei aufgezogenen Ferkeln führte zu einer Polioencephalomyelitis. Diese Virusstämme ließen sich im Verlauf der Erkrankung aus dem Kot, den Tonsillen und dem Zentralnervensystem der Tiere wieder isolieren.

Mitchell, Corner, Bannister und Greig konnten von Schweinen, die sporadisch an Durchfall und Polioencephalomyelitis erkrankt waren, sowohl aus dem Kot als auch aus dem Zentralnervensystem Virus isolieren. Eine intracerebrale Übertragung auf neugeborene Ferkel verlief zweifelhaft. Es kam lediglich zu einem Anstieg der neutralisierenden Serumantikörper. Auch Richards und Savan berichteten über die erfolgreiche Isolierung von Viren aus dem Kot und Zentralnervensystem erkrankter Schweine. Die Krankheit soll überwiegend Saugferkel schwer befallen.

b) Virusisolierung aus dem Kot gesunder Schweine

Über die Isolierung von Enteroviren aus dem Kot gesunder Schweine verschiedenen Alters liegen zahlreiche Untersuchungen vor (Beran, Werder, Wenner (1958, 1960); Hancock, Bohl, Birkeland (1959, 1960); Webster (1958); Mayr (1960); Jastrzebski (1961); Pette (1961)). Nach Wenner, Beran und Werder (1960) machen die Saugferkel und Schweine nach der oralen Virusaufnahme eine inapparente Infektion durch. Das Enterovirus wird über einen langen Zeitraum mit dem Kot ausgeschieden ohne daß die Tiere klinisch erkranken. In 55 - 73 % konnte bei 5 - 10 Wochen alten Ferkeln Virus isoliert werden. Nach einer 8 - 12 monatigen Beobachtungszeit schieden nur noch 6 % der gleichen Tiere Virus aus. Das Enterovirus war sowohl bei den Schweinen in Kansas City als auch in Missouri weit verbreitet.

2. Immunologische Eigenschaften der Enteroviren

In zahlreichen Untersuchungen wurde gezeigt, daß es sich bei den ECSO-Viren nicht um eine einheitliche serologische Gruppe handelt (Lamont, Betts (1960); Sibalin und Lannek (1960); Bohl, Singh,

Hancock und Kasza (1960); Mayr (1961) und Pette (1961)). Wie von Webster, Mayr und Pette berichtet wird, erfolgt die Typisierung der ECSO-Viren am besten im Kreuzneutralisationstest in Schweinenierenkulturen.

Zur Herstellung von virusspezifischen Immunseren sind abgesehen von den Seren kolostrumfrei aufgezogener Ferkel Schweineseren nicht geeignet, da ein großer Prozentsatz der Tiere bereits gegen einen oder mehrere ECSO-Viren neutralisierende Serumantikörper besitzt. Dagegen haben sich Meerschweinchen- oder Kaninchen-Immunseren gut bewährt. Mit dieser Methode ließen sich die aus dem Kot isolierten Viren in verschiedene Serotypen aufteilen und gegenüber den verschiedenen Typen des Teschenvirus abgrenzen.

Bohl, Singh, Hancock und Kasza beschreiben die Möglichkeit einer serologischen Differenzierung über die Plaque-Methode in Schweinenierenkulturen. So unterschieden sich 4 von 5 Enteroviren durch ihre Plaque-Form und -Größe.

Mit der "Agar-double-diffusion precipitation reaction" konnten Boulanger, Bannister und Greig das Teschenvirus von den ECPO-Viren unterscheiden.

3. Empfänglichkeit und Züchtungsmethoden

Wie von Sibalin, Lannek, Betts, Jennings, Kelly, Wenner, Werder, Beran, Richards, Savan, Mitchell, Corner, Bannister und Greig mitgeteilt wurde, sind für die ECSO-Viren nur Schweine empfänglich.

Moscovici und Mitarbeiter konnten dagegen mit einem ECPO-Virusstamm nach experimenteller Infektion bei einem Esel Diarrhoe hervorrufen.

In infantilen und erwachsenen Mäusen, Kaninchen, Hamstern, Meerschweinchen, Affen und Hühnerembryonen vermehren sich die ECSO-Viren nicht (Moscovici, Beran, Werder, Wenner).

Die ECSO-Viren vermehren sich nur in Schweinenierenkulturen. Der Virus-

vermehrung läuft ein zytopathogener Effekt parallel. Nach Moscovici vermehren sich einzelne ECSO-Virusstämme des Schweines auch in Eselnierenkulturen und nach Hancock, Bohl und Birkeland in Affennierenzellkulturen.

4. Infektiositätsbestimmungen

Der Infektiositätstiter der Enteroviren ist bei den einzelnen Virusstämmen unterschiedlich. Nach Werder, Beran, Wenner, Betts, Jennings, Kelly, Webster und Jastrzebski bewegt er sich in der Regel zwischen $10^{-4,0}$ - $10^{-7,0}$ KID_{50} (Kultur-infektiöse-Dosen $_{50}$/0,1 ml).

5. Physikalische Eigenschaften

a) Größe

Die Größe der Enteroviren, untersucht durch Filtration mit Gradacol-Membran, wird von Webster, Betts, Jennings und Kelly, sowie von Lamont, Betts mit 27-35 mμ angegeben.

Ferner konnten Bögel und Mayr durch die Bestimmung der Sedimentations-Konstanten (S_{20}) die Größe der Enteroviren des Schweines angeben. Eine Sedimentations-Konstante unter 200 s spricht für einen Teilchendurchmesser von weniger als 35 mμ.

b) Temperatur

Ein von Beran, Werder und Wenner untersuchter ECSO-Virusstamm wurde bereits nach 5 Minuten bei 65°C inaktiviert. Betts, Jennings und Kelly berichten dagegen über die Inaktivierung eines ECPO-Stammes bei 56°C erst nach dreieinhalb Stunden. Bei Zimmertemperatur überlebt das Virus 150 Tage, während bei + 4°C nach 178 Tagen und bei -70°C nach 449 Tagen kein Titerverlust festgestellt werden konnte.

c) Chloroformresistenz

Nach M a y r und B ö g e l verhalten sich die Enteroviren des Schweines chloroformresistent. Diese Autoren wiesen auf die Bedeutung des Chloroformresistenztestes zur Isolierung und Charakterisierung von Enteroviren der Tiere hin. Der Chloroformresistenztest gibt Anhaltspunkte für die Größenordnung eines Agens und gleichzeitig auch für eine grobe Eingruppierung und für die weitere Versuchsplanung zur Charakterisierung und Identifizierung eines isolierten Virusstammes. Weiterhin haben M a y r und B ö g e l auf die bakterizide Wirkung des Chloroforms, den fettlösenden und den proteinfällenden Effekt hingewiesen.

III. E I G E N E U N T E R S U C H U N G E N

A) M a t e r i a l u n d M e t h o d e n

1. Untersuchungsmaterial

250 Kotproben frisch geschlachteter Schweine verschiedenen Alters wurden auf chloroformresistente Viren untersucht. Das Material wurde am Schlachthof München entnommen.

Nach der Kotgewinnung aus den abgebundenen Mastdarmabschnitten wurde der Kot nach einer von A. M a y r und K. B ö g e l beschriebenen Technik verarbeitet. Jeweils 3 Gramm einer Kotprobe wurde mit einer Phosphat-gepufferten Salzlösung (PBS nach D u l b e c c o und V o g t) im Verhältnis 1:10 gemischt. Nach Zugabe von 100 I.E. Penicillin und 100 γ Streptomycin pro ml wurden die Kotsuspensionen 30 Minuten bei Zimmertemperatur in einem Schüttelapparat geschüttelt und anschließend 30 Minuten bei 3 000 Umdrehungen abzentrifugiert. Der Überstand wurde zu gleichen Teilen mit Chloroform pro analysi versetzt und das Ganze wiederum eine Stunde bei Zimmertemperatur geschüttelt. Nach 16 - 20 stündiger Lagerung bei +4°C wurde das Präzipitat mit dem Chloroform über 30 Minuten bei 3000 Umdrehungen abzentrifugiert. Der Überstand wurde nochmals 30 Minuten bei 3000 Umdrehungen zentrifugiert. Dieser Überstand stellte das Ausgangsmaterial zur Verimpfung auf Schweinenierenkulturen dar.

2. Bakteriologische Prüfung

Das mit Chloroform aufgeschüttelte und abzentrifugierte Material wurde bei der Verimpfung auf Gewebekulturen gleichzeitig einer bakteriologischen Prüfung unterzogen. Die Sterilität wurde durch Beimpfung auf Blutplatten geprüft und die Platten über 5 - 7 Tage bei 37°C im Brutschrank gehalten. Die Kotsuspensionen waren nach der Chloroformbehandlung alle steril. Bei gelegentlichen bakteriellen Verunreinigungen während laufender Gewebekulturpassagen wurde das Material nochmals mit Chloroform behandelt und bakteriologisch überprüft. Die nach dieser Behandlung unsteril gebliebenen Proben wurden verworfen.

3. Herstellung der Gewebekulturen

Die Gewebekulturen wurden nach der Trypsinierungsmethode von D u l b e c c o, V o g t und Y o u n g n e r in der Modifizierung von S c h w ö b e l und M a y r aus den Nieren von Schlachtschweinen hergestellt. Die Nieren wurden in der Regel so schnell wie möglich nach der Entnahme aus den frisch getöteten Tieren verarbeitet. Für die Trypsinierung verwendet man nach der Entfernung der Kapsel ausschließlich die Nierenrindensubstanz. Sie wurde zu Würfeln von 0,5 bis 1,0 cm Kantenlänge geschnitten. Zur Entfernung von Blut- und Zellresten wurde das zerkleinerte Gewebe 2 - 3 mal in PBS gewaschen.

Die Nierenstückchen wurden anschließend 20 Minuten mit 0,25 %igem Trypsin auf einem Magnetrührer vortrypsiniert. Das von den Zellen getrübte Trypsin wurde abgegossen und verworfen und durch neues ersetzt. Am Anfang trypsinierten wir ca. 5 Stunden bei Zimmertemperatur, später über Nacht bei +4°C. Nach Abgießen der Zellsuspensionen durch ein Seihtuch wurden die Zellen abzentrifugiert, (10 Sekunden bei 500 Umdrehungen, 10 Sekunden bei 1000 Umdrehungen, 5 Minuten bei 500 Umdrehungen). Der von den Zellresten trübe Überstand wurde abgesaugt und das Zellsediment in frischer PBS-Lösung 2 mal gewaschen. Hierzu wurde das Sediment gut durchpipettiert und anschließend abermals zentrifugiert. Das Zellsediment wurde in einer Konzentration von 800 000 Zellen pro ml im Anzuchtmedium aufgenommen (Earle'sche Salzlösung, 10 % Kälberserum, 10 % Laktalbumin einer 5%igen Lösung, 2 % Phenolrot einer 0,1%igen Lösung). Pro ml wurde dem Medium 100 I.E. Penicillin und 100 γ Streptomycin zugegeben. Der pH-Wert der Zellsuspension wurde durch Begasung mit CO_2 ungefähr auf 7,2 eingestellt.

Für die Passagen wurden die Zellen in Reagenzgläsern ausgesät (1,5 ml). Nach einer zweitägigen stationären Bebrütung bei 37°C wurde das Anzuchtmedium abgesaugt und die Kulturen mit frischem Medium gefüttert. In der Regel waren die Zellen nach 5 - 7 Tagen zu einem nahezu dichten Zellrasen ausgewachsen. Das Medium wurde abermals gewechselt und gegen ein neues ersetzt. Als Erhaltungs- bzw. Virusmedium diente ausschließlich steril filtrierte Rinderamnionflüssigkeit (RAF).

4. Beimpfung der Gewebekulturen

Für die Anzüchtung der Enteroviren in Schweinenierenkulturen wurden jeweils 5 Kulturröhrchen mit einer 10 %igen Kotsuspension beimpft. Die Animpfdosis pro Röhrchen war 0,1 ml. Die Kulturen wurden laufend mikroskopisch beobachtet. Kam es zu einer spezifischen Zellzerstörung, so wurde das Medium auf dem Höhepunkt des zytopathogenen Effektes gewonnen. Jeder Virusstamm wurde auf diese Weise mindestens 5 mal in Schweinenierenkulturen passiert und dann bei -20°C eingefroren.

Blieben die Zellkulturen nach einer 5 - 7 tägigen Beobachtungszeit dagegen unverändert, so wurden sie bei -20°C kurzfristig eingefroren und vor der weiteren Verarbeitung bei Zimmertemperatur wieder aufgetaut. Das Medium wurde dann ebenfalls auf neue Zellkulturen verimpft. Kam es in der zweiten Kulturpassage zu keiner spezifischen Zerstörung des Zellrasens, so wurde das Material als negativ gewertet.

Als Kontrollen liefen jeweils 10 - 20 unbeimpfte Röhrchenkulturen des gleichen Ansatzes mit.

B) Ergebnisse der Untersuchungen

1. Isolierung der Enteroviren

Von 250 Kotproben klinisch gesund geschlachteter Schweine ließen sich 34 chloroformresistente Enteroviren isolieren. Von diesen Viren zeigten bereits 13 in der ersten Schweinenierenkulturpassage einen zellzerstörenden Effekt (zytopathogener Effekt), während bei 21 Enteroviren erst in der zweiten Kultur-

passage virusspezifische Zellveränderungen zu beobachten waren. Insgesamt waren in der ersten und zweiten Kulturpassage 13, 6 % der untersuchten Schweinekotproben positiv.

Die Ergebnisse sind in der Tabelle 1 zusammengefaßt.

2. Beschreibung des zytopathogenen Effektes in Schweinenierenkulturen

Man gewann den Eindruck, daß die Kulturzerstörungen, ähnlich wie bei anderen Viren, in zwei Phasen verliefen. In der Regel kam es zuerst zu einer Abkugelung der Zellen, der sich dann eine lytische Phase anschloß.

Die sogenannte Abkugelungsphase war durch eine diffuse Verteilung von abgekugelten Zellen über den ganzen Zellrasen charakterisiert. Im Laufe der Beobachtungszeit schienen die abgekugelten Zellen degenerativ aufgetrieben und gegenüber ihrer Umgebung scharf abgegrenzt. Diesem Vorgang schloß sich eine schrittweise Auflösung der Kultur an. In der Regel war der Zellrasen nach 7 Tagen p.i. in der ersten Kulturpassage total zerstört (Abb. 1-3).

Der Beginn des zytopathogenen Effektes war nicht bei allen isolierten Viren gleich. Bei einigen Viren kam es zuerst zu einer Granulation der Zellen, der sich eine lytische Phase anschloß. Die degenerativen Veränderungen begannen mit einer unregelmäßigen Schrumpfung der Zellen. Die Zellen nahmen eine scharfe Konturierung an. Der Zellschrumpfung lief eine starke Granulation parallel. Durch diesen Prozeß lockerte sich der ursprünglich eng gefügte Gewebeverband mehr und mehr auf (Abb. 4-6).

Bei den Kotproben, die bereits in der ersten Kulturpassage positiv waren, konnte ein virusbedingter zytopathogener Effekt am 3. bis 5. Tag p.i. festgestellt werden. 21 Kotproben, die nach einer 7 tägigen Beobachtungszeit in Schweinenierenkulturen zu keiner virusspezifischen Zellzerstörung führten, zeigten in der zweiten Kulturpassage bereits am zweiten bis dritten Tag p.i. einen deutlichen zytopathogenen Effekt, der nach weiteren 2 Tagen zu einer ebenfalls totalen Zellzerstörung führte. Der zytopathogene Effekt entsprach den bereits oben beschriebenen.

Eine weitere Fortführung der isolierten Enteroviren in Schweinenierenkulturen gelang stets.

Tabelle 1

Ergebnis der Virusisolierung aus dem Kot von Schlachtschweinen über Schweinenierenkulturen

Zellart	Material	Zahl der untersuchten Proben	zytopathogener Effekt				Gesamtzahl der positiven Proben	
			1. Schweinenierenkulturpassage		2. Schweinenierenkulturpassage		in der 1. bis 5. Kulturpassage	in Prozent
			positiv	negativ	positiv	negativ		
Schweinenierenkulturen	10%ige Kotsuspensionen	250	13	237	21	227	34	13,6 %

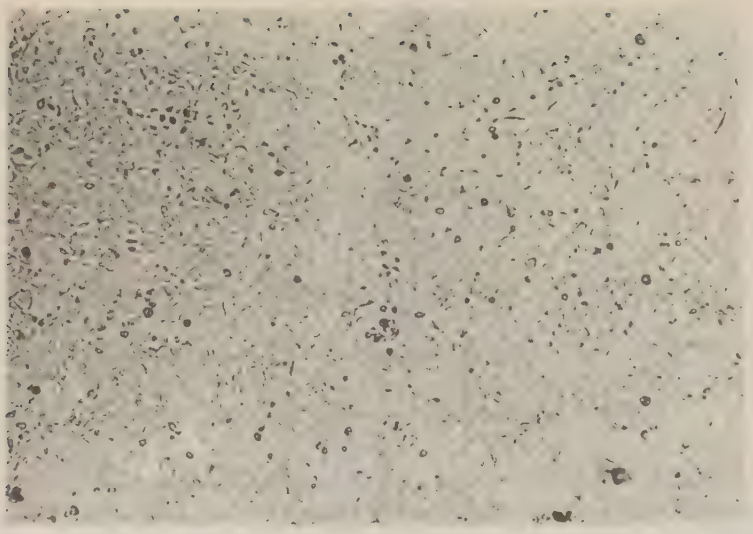

Abb. 1: Unbeimpfte Schweinenierenkulturen

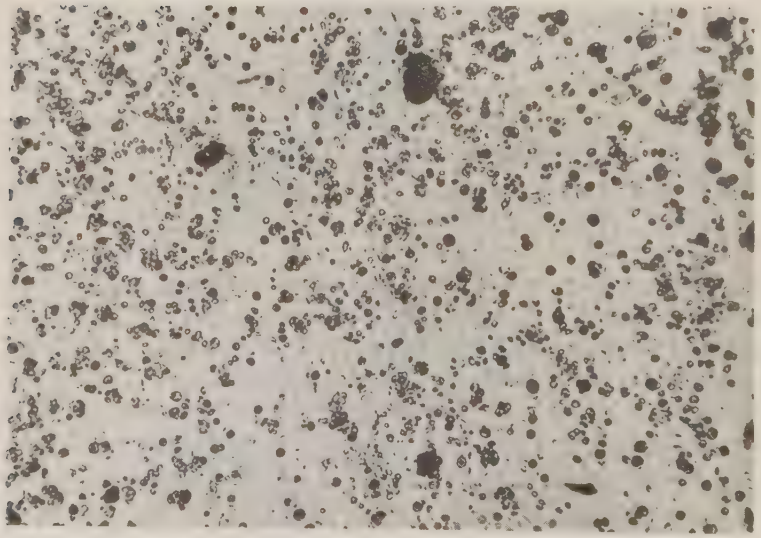

Abb. 2: Fortschreitende Abkugelung von Kulturzellen nach Beimpfung mit einem ECPO-Virusstamm

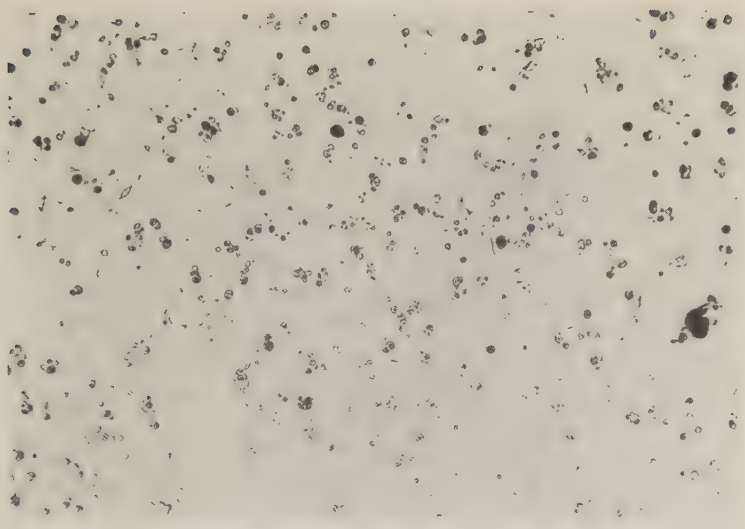

Abb. 3: Totale Kulturzerstörung nach Beimpfung mit einem ECPO-Virusstamm

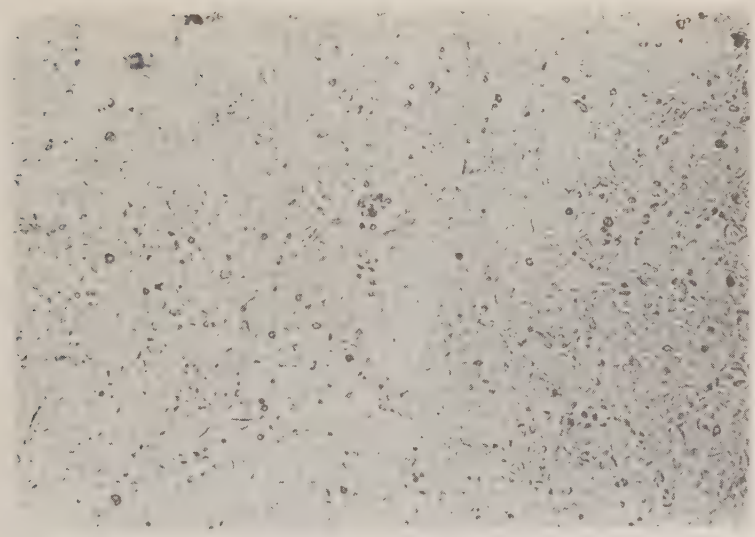

Abb. 4: Unbeimpfte Schweinenierenkultur

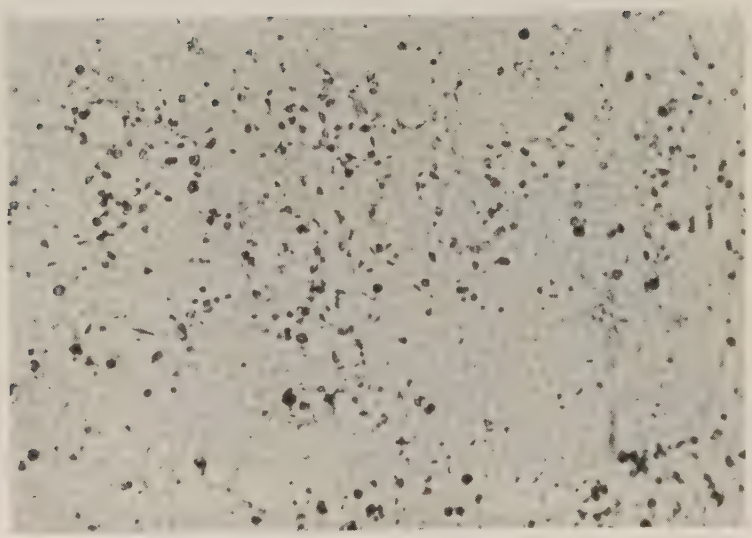

Abb. 5: Beginnende Degeneration von Kulturzellen nach Beimpfung mit einem ECPO-Virusstamm

Abb. 6: Totale Kulturzerstörung nach Beimpfung mit einem ECPO-Virusstamm

Der zeitliche Ablauf des zytopathogenen Effektes bis zur vollkommenen Kulturzerstörung verkürzte sich mit zunehmender Adaptation der Viren an die Gewebekultur. In der ersten bzw. zweiten Kulturpassage dauerte es ungefähr 5-7 Tage bis der Zellrasen total zerstört war. Ab der dritten Passage begannen die ersten spezifischen Zellveränderungen bereits nach 20 - 30 Stunden p.i. In der Regel waren die Kulturen nach 48 - 72 Stunden p.i. vollkommen zerstört.

IV. BESPRECHUNG DER ERGEBNISSE

Die Größe der Enteroviren des Schweines schwankt nach Webster, Jennings und Kelly, Lamont und Betts zwischen 27 - 35 mμ. Zur Abgrenzung der Enteroviren gegenüber größeren Viren, die mit dem Kot ausgeschieden werden können, eignet sich der Chloroformresistenztest nach Mayr und Bögel. Nach diesen Autoren verhalten sich nur Viren, die kleiner als 35 mμ sind, chloroformresistent, während die größeren wahrscheinlich wegen ihres Lipoidgehaltes chloroformempfindlich sind. Der Chloroformresistenztest gibt so Anhaltspunkte für die Größenordnung eines Virusstammes. Die von Mayr und Bögel untersuchten Enteroviren bei Rindern und Schweinen verhielten sich alle chloroformresistent.

Neben dem Verhalten des Chloroforms gegenüber verschieden großen Viren, übt das Chloroform auf bakteriell verunreinigte Virussuspensionen eine bakterizide Wirkung aus. Pyl und Möhlmann (1954) und später Wittmann und Matheka (1958) untersuchten das Verhalten einzelner Bakterienstämme gegenüber Chloroform. Sie zeigten, daß die vegetativen Bakterienformen (Coli, Staphylokokken, Streptokokken u.a.) durch das Chloroform innerhalb von 1 - 2 Stunden abgetötet werden.

Da im Schweinekot zahlreiche verschiedene Bakterienstämme enthalten sind und diese für den Nachweis von Viren nach der Verimpfung auf Gewebekulturen als unangenehme Begleiterscheinungen auftreten können, ist die Chloroformbehandlung auch in dieser Richtung von großer Bedeutung.

Mit Hilfe dieser Methode konnten in eigenen Untersuchungen aus 250 Kotproben von Schlachtschweinen 34 Enteroviren über Schweinenierenkulturen isoliert werden. In der ersten Kulturpassage zeigten bereits 13 Kotproben einen zytopathogenen Effekt. Das entspricht 5,2 % der untersuchten Tiere. 21 Kotproben,

die in der ersten Kulturpassage keine Zellveränderungen hervorriefen, führten in der zweiten Passage zu einem zytopathogenen Effekt (9,2 %). Insgesamt schieden also 13,6 % der Schweine Virus im Kot aus.

Diese Ergebnisse stimmen mit denen von Pette hinsichtlich der Anzüchtung von Enteroviren des Schweines in Schweinenierenkulturen überein. Auch in seinen Untersuchungen trat bei virushaltigen Kotproben der zytopathogene Effekt in der ersten und zweiten Kulturpassage auf.

Über die prozentuale Virusausscheidung bei klinisch gesunden Schweinen berichteten Wenner, Beran und Werder (1960). Sie geben an, daß der Höhepunkt der Virusausscheidung bei 5 - 10 Wochen alten Ferkeln mit 55 - 73 % zu beobachten ist, während bei 8 - 12 monatigen Tieren nur noch 6 % Virusträger sind. Schweine werden in der Regel im Alter von 6 - 12 Monaten geschlachtet, so daß ein hoher Prozentsatz von Virusträgern in diesem Alter nicht zu erwarten ist. In eigenen Untersuchungen am Schlachthof München schieden von 250 Schlachtschweinen 34 Tiere (13,6 %) Enteroviren mit dem Kot aus. Die Frage bleibt zur Zeit offen, ob die von Wenner, Beran und Werder isolierten Viren hinsichtlich ihres Chloroformverhaltens mit unseren Viren übereinstimmen.

Interessant war, daß die Zellzerstörungen in Schweinenierenkulturen nicht einheitlich verliefen. Neben der sogenannten Abkugelungsphase, wie sie auch von Webster beobachtet wurde, erschienen die Zellen nach der Verimpfung von einigen Kotproben mehr unter granulationsähnlichen Erscheinungen zu degenerieren. Über ähnliche Ergebnisse berichteten Jennings und Kelly. In jedem Falle schloß sich aber dann die lytische Phase an.

Auf Grund des verschiedenen zytopathogenen Effektes war es nicht möglich, eine Aussage über das antigene Verhalten der isolierten Viren zu machen. Die Unterschiede in der Zerstörung des Zellrasens sind manchmal so gering, daß sie kaum beobachtet werden können.

Zur näheren Differenzierung der Enteroviren eignet sich der Kreuzneutralisationstest in der Gewebekultur. Mayr schlägt deshalb vor, die Enteroviren des Schweines neben ihrer Chloroformresistenz nach ihrem serologischen Verhalten in verschiedene Serotypen einzuteilen. Inzwischen konnten 7 serologisch unterschiedliche Serotypen gefunden werden (Mayr 1961, Pette 1961). Wie Pette kürzlich berichtete, verhalten sich die von uns isolierten

Enteroviren serologisch nicht einheitlich. 6 bisher näher untersuchte Virusstämme wurden in 4 verschiedene ECSO-Virengruppen eingeordnet (ES-Mü 3-ES-Mü 6). P e t t e nimmt an, daß sich noch weitere Serotypen finden lassen.

Neben dem Neutralisationstest kann die unterschiedliche Plaqueform und -größe Anhaltspunkte für das verschiedene Antigenverhalten geben (B o h l, S i n g h, H a n c o c k und K a s z a). Die Übergänge in den Plaques sind manchmal so fließend, daß eine genaue Aussage jedoch nicht möglich ist. Immerhin zeigten 4 von 5 untersuchten Enteroviren unterschiedliche Plaquebilder (B o h l, S i n g h, H a n c o c k und K a s z a). Allerdings konnten 2 Stämme, die serologisch verwandt, aber antigenmäßig verschieden waren, an Hand der Plaques nicht unterschieden werden.

Da über das klinische Geschehen der ECPO-Viren im Schwein noch wenig bekannt ist, bleibt oft als einziger Nachweis einer stattgefundenen Infektion im Schwein mit dem Enterovirus nur das Vorhandensein bzw. der Anstieg von spezifisch neutralisierenden Serumantikörpern.

B e r a n, W e n n e r, W e r d e r und W e b s t e r wiesen auf die große Verbreitung der Enteroviren in den USA und Neuseeland hin. Ein großer Prozentsatz der klinisch gesunden Schweine besitzt gegen die von diesen Autoren isolierten ECSO-Viren neutralisierende Antikörper.

In unseren Untersuchungen waren 13,6 % der Schlachtschweine Virusträger. Dieser relativ hohe Prozentsatz berechtigt uns zu der Annahme, daß die ECSO-Viren auch in unserem Gebiet weit verbreitet sind.

V. Z U S A M M E N F A S S U N G

250 Kotproben klinisch gesunder Schlachtschweine wurden auf chloroformresistente Enteroviren getestet. Die Untersuchungen der Kotproben auf Virusgehalt wurden in Schweinenierenkulturen durchgeführt. Insgesamt konnten 34 Virusstämme (13,6 %), die einen zytopathogenen Effekt in Schweinenierenkulturen hervorriefen, isoliert werden. Bei 13 Kotproben trat der zytopathogene Effekt in der ersten Schweinenierenkulturpassage zwischen dem dritten und fünften Tag p.i. auf. 21 Kotproben, die in der ersten Schweinenierenkulturpassage negativ waren, zeigten in der zweiten Schweinenierenkulturpassage zwischen

dem zweiten und dritten Tag p.i. virusbedingte Zellzerstörung. Eine Fortführung der isolierten Viren in weiteren Schweinenierenkulturpassagen gelang stets. Jeder Virusstamm wurde 5 mal passiert.

Der zytopathogene Effekt war nicht bei allen Viren einheitlich. Neben der sogenannten Abkugelungsphase erschienen die Zellen in einigen Fällen mehr unter granulationsähnlichen Erscheinungen zu degenerieren. Diesen Vorgängen schloß sich aber stets die Auflösungsphase an.

Auf Grund des verschiedenen zytopathogenen Effektes war es nicht möglich, eine Aussage über das antigene Verhalten der isolierten Viren zu machen.

VI. SCHRIFTTUM

1. Beran, G.W., Werder, A.A. und Wenner, H.A. — Enteroviruses of swine I. Their Recognition, Identifikation and Distribution in a Herd of swine. Amer. J. Vet.Res. 19, 545-553 (1958).

2. Beran, G.W., Wenner, H.A., Werder, A.A. und Underdahl, N. — Enteroviruses of swine III. Studies on Experimental Infection in Pigs. Amer. J.Vet.Res. 21, 723 (1960)

3. Betts, A.O. — Studies on Enteroviruses of the Pigs. I. Res.vet.sc. 1, 57-64 (1960).

4. Betts, A.O. — Studies on Enteroviruses of the Pigs. II. Res.vet.sc. 1, 65-71 (1960).

5. Betts, A.O., Jennings, A. und Kelly, D. — Studies on Enteroviruses of the Pigs. VI. Res.vet.sc. 1, 296-200 (1960).

6. Bohl, E.H., Singh, K.V. Hancock und Kasza, L. — Studies on five porcine Enteroviruses. Amer.J.Vet.Res. 21, 99-103 (1960)

7. Bögel, K. und Mayr, A. — Untersuchungen über die Chloroformresistenz der Enteroviren des Rindes und des Schweines. Zbl.Vet.Med. 8, 908, 1961

8. Boulanger, P., Bannister, G. und Greig, A.S. — The study on some viral infections so swine by means of the Agar double-Diffusion precipitation reaction. Canad.J.comp.Med.and Vet.Sc.25, 113 (1961)

9. Committee on the ECHO-Viruses of the National Foundation for Infantile paralysis — Enteric cytopathogenic human orphan (ECHO) viruses, Science 122, 1187-1188

10. Dulbecco, R. und Vogt, M. — Plaque formation and isolation of pure lines with poliomyelitis viruses. J. Exp. Med. 99, 167 (1954)

11. Greig, A. S., Bannister, G., Mitchell, D. und Corner, A. H. — Studies on pathogenic porcine enteroviruses. Canad. J. comp. Med. and Vet. Sc. 25, 142 (1961).

12. Hancock, B. B., Bohl, E. H. und Birkeland, J. M. — Swine kidney cell cultures-susceptibility to viruses and use in isolation of enteric viruses of swine. Amer. J. Vet. Res. 20, 127-132 (1959)

13. Jastrzebski, T. — Studien über vermutliche Orphanviren bei Schweinen. Arch. Exp. Vet. Med. 15, 408 (1961)

14. Jennings, A. und Kelly, D. — Studies on Enteroviruses of the Pig. III. Res. Vet. Sc. 1, 72-75 (1960)

15. Lamont, P. H. und Betts, A. O. — Enteroviruses in the pigs. Nature 182, 608-609 (1958)

16. Lamont, P. H. und Betts, A. O. — Studies on Enteroviruses of the Pig. IV. Res. Vet. sc. 1, 152-159 (1960)

17. Mayr, A. — Die Diagnose der ansteckenden Schweinelähmung mit Hilfe des Neutralisationstestes in der Gewebekultur. Zbl. Vet. Med. 4, 613 (1957)

18. Mayr, A. — Ein Gewebekulturimpfstoff gegen die ansteckende Schweinelähmung. Zbl. Bakt. Orig. 172, 465-480 (1958)

19. Mayr, A. — Bull. off. internat. Epizool. 56, 99 (1961)

20. Mayr, A. und Bögel, K. — Der Chloroformresistenztest zur Isolierung und Charakterisierung von Enteroviren. Zbl.Bakt.Orig. 182, 564-570 (1961)

21. Mayr, A. und Schwöbel, W. — Züchtung des Virus der ansteckenden Schweinelähmung in der Gewebekultur. Mh.Tierheilk. 8, 49 (1956)

22. Mayr, A. und Schwöbel, W. — Die Züchtung des Virus der Teschnerkrankheit in Nierengewebekulturen vom Schwein und Charakterisierung des Kulturvirus. Zbl.Bakt.Orig. 161, 336-349 (1957)

23. Mitchell, D., Corner, H., Bannister, L. und Greig, S. — Studies on pathogenic porcine Enteroviruses I. Canad.J.Comp.Med. and Vet. Sc. 25, 85-93 (1961)

24. Moscovici, C., Ginevri, A. und Mazzaracchio — Isolamento su coltura ditessuti di un virus da enterite suina. Zooprofilassi 1, 417-426 (1956)

25. Moscovici, C., Ginevri, A. und Mazzaracchio — Isolation of cytopathogenic agent from swine with enteritis. Amer.J.Vet.Res. 20, 625-626 (1959)

26. Pette, J. — Untersuchungen über die Isolierung und serologische Differenzierung von Enteroviren des Schweines. Zbl.Verf.Med. 1962 (im Druck).

27. Pyl, G., und Möhlmann, H. — Über Maul- und Klauenseuche-Konzentrat-Vaccinen. II. Mitt. Arch.Exp.Vet.Med. 8, 442 (1954)

28. Richards, W.P.C. und Savan, M. — A viral Encephalomyelitis of the Pigs. Cornell.Vet. 50, 132 (1961)

29. Sibalin, M. und Lannek, N. — An enteric porcine Virus producing Encephalomyelitis and Pneumonitis in Baby Pigs. Arch. Virusforsch. 10, 1, 31-45 (1960)

30. Singh, K.V., Bohl, E.H. und Birkeland, J.M. — The use of the plaque technique for the study of porcine enteroviruses. Amer. J. Vet. Res. 20, 568-572 (1959)

31. Singh, K.V., Bohl, E.H., Hancock, B.B. und Kasza, L. — Studies on some of the variables with the formation of the plaques by the ECPO-1 virus. Amer. J. Vet. Res. 21, 1114 (1960)

32. Singh, K.V., Mc Conell, Bohl, E.H. und Birkeland, J.M. — Fecal Excretion of porcine Enteroviruses following Experimental Infection of the Pigs. Virology, 12, 1, 139 (1960)

33. Webster, R.G. — The Isolation of orphan Viruses from Pigs. New Zealand. Austral. J. Exp. Biol. and Med. Sc. 36, 267 (1959)

34. Wenner, H.A., Beran, G.W. und Werder, A.A. — Enteroviruses of Swine. II. Amer. J. Vet. Res. 21, 958 (1960)

35. Wittmann, G. und Matheka, D.H. — Zur Verwendung von Chloroform als bakterizides Mittel bei der Herstellung von Virusvaccinen. Mh. Tierheilk. 10, 161-169 (1958)

36. Youngner, J.S. — Monolayer Tissue Cultures. I. Preparation and Standardisation of Suspansion of Trypsin-dispersed Monkey Kidney Cells. Proc. Soc. Exp. Biol. (NY) 85, 202-205 (1952)

Meinem hochverehrten Lehrer, Herrn Professor Dr. A. M e y n , sage ich meinen herzlichen Dank für die freundliche Überlassung des Themas.

Ganz besonders danken möchte ich Herrn Dr. J. P e t t e für die jederzeit gewährte Hilfe und seine Ratschläge bei der Gestaltung der Arbeit.

LEBENSLAUF

Am 23. 7. 1938 wurde ich, Teferra W o n d e , als Sohn des Beamten Tesema W o n d e und seiner Ehefrau Allemusch, geb. Escheti, in Debretabor, Aethiopien, geboren.

Die Volksschule besuchte ich in Addis Abeba und anschließend die Oberschule in der genannten Stadt und das Imperial College of Agriculture in Ambo, Aethiopien. Ende 1955 legte ich dort die Abschlußprüfung ab.

1956 bekam ich vom aethiopischen Staat ein Stipendium für einen Aufenthalt und zum Studium in Deutschland.

1956 kam ich nach Deutschland, wo ich mich zunächst vorbereitete, um die Voraussetzung für die Immatrikulation als ordentlicher Studierender an deutschen Hochschulen erfüllen zu können.

1957 begann ich das Studium der Veterinärmedizin in Hannover, wo ich 1959 das tierärztliche Vorexamen bestand und setzte darauf meine Studien der Veterinärmedizin und Naturwissenschaft an der Universität München fort.